

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 81107627.2

(51) Int. Cl.³: **B 01 L 3/00**
G 01 N 21/03

(22) Anmeldetag: 25.09.81

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
06.04.83 Patentblatt 83/14

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

(71) Anmelder: **Stöcker, Winfried, Dr. med.**
Krummesserweg 3
D-2419 Rondeshagen bei Lübeck(DE)

(72) Erfinder: **Stöcker, Winfried, Dr. med.**
Krummesserweg 3
D-2419 Rondeshagen bei Lübeck(DE)

(64) **Reaktionsgefäße für photometrische und andere Analysen.**

(57) Die Erfindung beschreibt Reaktionsgefäße mit wenigen Mikrolitern Inhalt. Bei photometrischen Analysen brauchen sie mit nur soviel Flüssigkeit gefüllt zu werden, als unmittelbar für die Schwächung der Meßstrahlung erforderlich ist.

Sie bestehen aus zwei oder mehreren Adhäsionsflächen (1, 2), die sich gegenüber liegen, das Reaktionsgemisch (4) von mehreren Seiten her festhalten und es in eine für die jeweilige Analyse geeignete Raumform bringen.

Proben und Reagenzien werden zusammen oder getrennt voneinander in die Reaktionsgefäße eingefüllt, oder sie werden auf die einzelnen Adhäsionsflächen aufgetragen (3 001 a, b, c; 7 001 a, b) und durch Zusammensetzen der Reaktionsgefäße miteinander in Kontakt gebracht (3 002 a, b; 3 004 c; 7 002 a, b).

Die Reaktionsteilnehmer vermischen sich untereinander, wenn man die Adhäsionsflächen dann mehrmals zwischen einem kleinsten und einem größten einstellbaren Abstand aufeinander zu und voneinander weg bewegt (3 003 a, b - 3 004; 7 004 - 7 005).

Die für die Schwächung des Strahlungsflusses zur Verfügung stehende Schichtlänge wird durch zwei senkrecht zu den Adhäsionsflächen angebrachte Begrenzungsflächen (Fenster 3 a, b), zwischen denen sich das Reaktionsgemisch ausdehnt (3 004; 7 006), genau festgelegt; sie kann z. B. 10,00 mm betragen, aber auch bis über 100,00 mm.

Die Reaktionsgefäße der Erfindung eignen sich besonders gut für Untersuchungen, bei denen eine Grenzschicht

zwischen zwei Flüssigkeiten beurteilt wird oder auch für chromatographische Analysen.

Man kann mehrere Analysen gleichzeitig nebeneinander durchführen, wenn man die Adhäsionsflächen mehrerer Reaktionsgefäße auf gemeinsamen Halterungen befestigt (11 001, 12 001, 13 001).

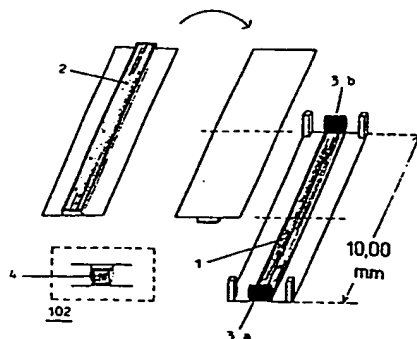


Abbildung 1

EP 0 075 605 A1

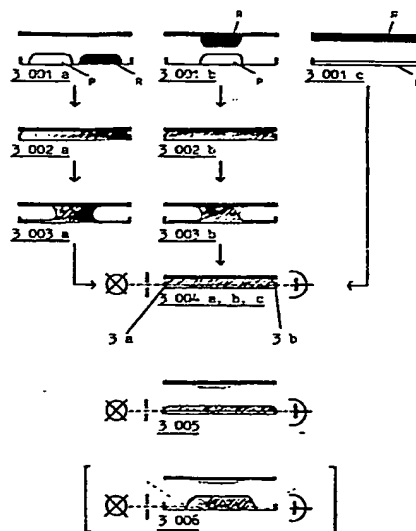


Abbildung 3

BEST AVAILABLE COPY

September 1981

REAKTIONSGEFÄSSE FÜR PHOTOMETRISCHE UND ANDERE ANALYSEN

Die vorliegende Erfindung beschreibt Reaktionsgefäße mit wenigen Mikrolitern Inhalt, die sich vor allem für photometrische Analysen eignen und mit nur soviel Flüssigkeit gefüllt werden müssen, als unmittelbar für die Schwächung der Meßstrahlung erforderlich ist. Die Analysen können verlustfrei und direkt im von der Meßstrahlung durchsetzten Teil der Reaktionsgefäße (Meßkanal) gemischt werden. Die Reaktionsgefäße der Erfindung lassen sich auch für chromatographische Analysen und andere Untersuchungen verwenden.

STAND DER TECHNIK

Der Gebrauch eines Reaktionsgefäßes soll am Beispiel einer einfachen chemischen Analyse erläutert werden:

Um zu untersuchen, wieviel Probensubstanz in einer Flüssigkeit enthalten ist, bringt man ein bestimmtes Volumen Probelösung mit bestimmten Volumina einer oder mehrerer Reagenzlösungen in einem Reaktionsgefäß zusammen. Dann vermischt man die Reaktionsteilnehmer untereinander, läßt sie reagieren und mißt in einem Photometer, um welchen Betrag oder wie schnell die Extinktion im Reaktionsgemisch zunimmt oder abnimmt. Daraus wird die gesuchte Konzentration nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz errechnet.

Die an der Reaktion beteiligten Moleküle müssen sich zu Beginn und im Verlaufe der Messung schnell und gleichmäßig durch Diffusion und Konvektion im gemeinsamen Lösungsmittel verteilen. Durch Diffusion können Konzentrationsunterschiede

leicht löslicher Reaktionsteilnehmer auf Wegstrecken bis etwa 1 mm genügend schnell abgebaut werden. In einem größeren Reaktionsgefäß muß man eine Konvektion hervorrufen, wodurch die Reaktionsteilnehmer grob verteilt und die Diffusionsstrecken ausreichend kurz werden: Man mischt den Analyseansatz.

Wenn beim Mischen Hilfsgerät vom Inhalt des Reaktionsgefäßes benetzt wird, geht ein Teil des Analysevolumens verloren. Wird das Hilfsgerät mehrmals nacheinander verwendet, besteht die Gefahr, daß Reaktionsgemisch von einer Analyse zur nächsten verschleppt wird, oder daß das Reaktionsgemisch nach dem Waschen des Hilfsgeräts durch Spülflüssigkeit verdünnt wird. Diese Gefahr kann man ausschalten, wenn man das Hilfsgefäß nach Gebrauch wegwirft. Dadurch wird aber die Analyse teurer.

Man kann den Analyseansatz manuell oder motorisch mit einem Rührspatel mischen, bei Verwendung von Magnetrührgeräten mit einem Stabmagneten.

Man kann auch die Reagenzlösung unter Druck in die vorgelegte Probe spritzen, oder die Probe in die Reagenzlösung (Vermischung unvollständig). Manchmal nimmt man das Reaktionsgemisch mit dem Dosiergerät, das die Probe abgegeben hat, einmal oder mehrmals auf und gibt es wieder ab (dabei können Dosierfehler entstehen).

Eine andere Möglichkeit zu mischen besteht darin, daß man ein Gas durch das Reaktionsgemisch leitet (hier kann sich störender Schaum bilden).

Häufig schüttelt man auch das Reaktionsgemisch im Gefäß, mit der Hand oder mit Hilfe eines Schüttel- oder Vibrationsgerätes (ein Teil des Reaktionsgemisches bleibt an der Wand des Gefäßes hängen und geht für die Messung verloren).

Bei Analysen, die nicht vollautomatisch ablaufen, wird erfahrungsgemäß oft nicht sorgfältig genug gemischt, und

häufig wird das Mischen auch ganz unterlassen. Die dadurch bedingten Meßfehler können die Fehlerbreite der photoelektrischen Einrichtung um ein Vielfaches übertreffen.

Für die praktische Durchführung einer Analyse gibt es nach dem Stand der Technik mehrere Möglichkeiten:

1. Die Probe wird mit den Reagenzien in einem Hilfsgefäß vereinigt und gemischt, das Reaktionsgemisch wird in eine Photometer-Küvette übertragen.

Auf diese Weise läßt sich bei Endpunktmethode die Kapazität des Photometers besser ausnutzen, wenn eine billige Wegwerfküvette nicht verwendet werden kann. Als Hilfsgefäß dient meistens ein Reagenzglas.

Die EP-OS 0 005 979 beschreibt ein Reaktionsgefäß aus einem Kapillarschlauch, der an einem Ende mit einer Kolbenspritze und am anderen Ende mit einem zweiten, dünneren Einlaßschlauch verbunden ist. Der Einlaßschlauch wird nacheinander in Probe und Reagenzien getaucht, und mit der Kolbenspritze wird dabei jeweils ein bestimmtes Volumen aufgezogen. Zum Mischen werden die Reaktionsteilnehmer von der Kolbenspritze in den Kapillarschlauch gesaugt. Dann wird das Reaktionsgemisch in eine Photometer-Küvette übertragen und seine Extinktion in einem Photometer gemessen.

Auch in Continuous-Flow-Analysatoren werden die Reaktionsteilnehmer außerhalb des Meßgefäßes vereinigt und gemischt (z. B. im Sequential Multichannel Analyzer II der Firma Technicon, Tarrytown, New York, USA). Ein Teil der Probe und der Reagenzien wird zusätzlich zur eigentlichen Analyse auch zum Auswaschen der Küvette und ihrer Zuleitungen verbraucht. Deshalb ist das Durchflußverfahren prinzipiell nicht für Analysen mit sehr kleinen Volumina geeignet.

Bei den meisten Analyseverfahren mit Hilfsgefäßen geht ein

Teil des Reaktionsgemisches in den Hilfsgefäßen verloren. Wenn nur wenige Mikroliter Probe und Reagenzien zur Verfügung stehen, scheint man ohne Hilfsgefäß nicht auszukommen, weil hier die Photometer-Küvette einen engen, beispielsweise als Kapillare ausgebildeten Meßkanal aufweist. Und es gibt bisher keine einfache und wirkungsvolle Methode, zwei oder mehr Flüssigkeiten in einem photometrierfähigen kapillarförmigen Meßkanal untereinander zu durchmischen, ohne daß ein Teil davon für die Messung verlorengeht und ohne daß gelegentlich Luftblasen in die Kapillare treten. Es ist daher einfacher, die Analyse außerhalb der Küvette anzusetzen und zu mischen.

Bisher wurden viele solcher kapillarförmigen Küvetten mit kleinen Analysevolumina beschrieben:

LOWRY, O. H. und BESSEY, O. A. (J. Biol. Chem. 163, 633 - 639, 1946) verkleinerten den Innenquerschnitt der Standardküvette (siehe unten) auf $2 \times 2,5 \text{ mm}^2$ (Füllvolumen $50 \text{ } \mu\text{l}$).

SIPPEL, T. O. (Exptl. Cell Research 7, 281 - 283, 1954) brachte eine Meßkapillare von 1 mm oder 2 mm Innendurchmesser in den Strahlengang des Photometers (Füllvolumen $8 \text{ } \mu\text{l}$ oder $31 \text{ } \mu\text{l}$ bei einer Schichtlänge von 10 mm).

KIRK, P. L. und andere (Anal. Chem. 19, 355 ff, 1947) beschrieben eine Küvette aus einem Rohr von 2 mm oder 4 mm Innendurchmesser und 50 mm Länge, das von KILZER, F. J. und MARTIN, S. B. (J. Chromatog. 31, 204 - 208, 1967) zu einer Meßzelle für die Durchflußphotometrie umgebaut wurde.

Die von ULLRICH, K. J. und HAMPEL, A. (Pflügers Arch. 268, 177 - 180, 1959) angegebene Küvette besteht aus einem Block mit einer Bohrung von 0,5 mm Durchmesser und 6 mm Länge.

Um sie zu füllen, reichen $5 \text{ } \mu\text{l}$ Flüssigkeit, die Füllstutzen einbegriffen. Als Fenster dieser Küvette werden mit Vorteil plankonvexe Sammellinsen verwendet (vermerkt bei NETHELER, H.: Absorptionsphotometrie, in: BERGMEYER, H. U.: Grundlagen der enzymatischen Analyse, Verlag Chemie, Weinheim/New York, 1977). Dadurch wird der für die Photometrie zur Verfügung

stehende Strahlungsfluß in der Küvette erhöht, und Reaktionsgemisch kann zusätzlich eingespart werden.

Das gleiche erreicht man mit Mikroskop-Photometern, für die auch Mikroküvetten großer Schichtlängen beschrieben wurden (HOLTER, H. und LOVTRUP, S.: Compt. Rend. Carlsberg, Sér. Chim. 27, 27 ff, 1949; KRUGELIS, E. J.: ebenda 27, 273 ff, 1950; FISCHER, W.: Acta histochem. 24, 285 - 289, 1966; Schichtlängen von 5 bis 10 mm, Füllvolumina unter 10 μ l). Extrem wenig Flüssigkeit beansprucht ein in der DE-Pat.-Anm. 31 22 896.8 angegebenes Meßgefäß, dessen Inhalt als flüssiger Lichtleiter wirkt.

2. Die Probe und die Reagenzien werden, getrennt voneinander, in eine Photometer-Küvette und in zusätzliche Hilfsgefäße dosiert, zum Starten der Reaktion werden alle Reaktionsteilnehmer in der Photometer-Küvette vereinigt und untereinander vermischt.

Durch dieses Vorgehen läßt sich der Startpunkt der Reaktion sehr genau festlegen. An den Wänden der Hilfsgefäße bleibt Flüssigkeit hängen, und zwar von Analyse zu Analyse unterschiedlich viel. Man muß daher ein genügend großes Volumen einsetzen, damit die Meßergebnisse nicht zu weit streuen.

Die DE-OS 27 35 077 beschreibt eine Meßzelle aus einem mehrere voneinander getrennte Kammern aufweisenden Gefäßteil und einem Küvettenteil. Die Reaktionsteilnehmer werden in die einzelnen Kammern gefüllt, und der Küvettenteil wird aufgesteckt. Danach wird die Meßzelle gekippt, wodurch die Reaktionsteilnehmer in den Küvettenteil fließen und sich untereinander vermischen.

Eine Meßzelle der DT-OS 26 36 678 weist mehrere Kammern auf, die untereinander durch Kapillarkanäle verbunden sind. Probe und Reagenzien werden in die Kammern gefüllt und dann durch die Kapillarkanäle in eine als Küvette dienende Kammer

gepreßt oder gesaugt; beim Zusammentreffen in dieser Kammer vermischen sie sich miteinander.

Bei HILGER, P. und anderen (Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, 579 - 581, 1970), in der DE-PS 15 98 501 und in der DE-AS 24 22 260 wird eine Kapillare mit einem definierten Volumen Probelösung gefüllt und in eine Küvette mit Reagenzlösung gelegt. Dann wird die Küvette geschüttelt, wobei sich der Inhalt der Kapillare mit der Reagenzlösung vermischt. Die Kapillare verbleibt während der Photometrie in der Küvette.

Im Automatic Clinical Analyzer der Firma Du Pont, Wilmington, Delaware, USA, wird die Probe in den Küvettenteil einer Meßzelle injiziert und mit Pufferlösung verdünnt. Die Meßzelle besteht aus flexiblen, durchsichtigem Plastikmaterial. Sie enthält mehrere durch Membranen verschlossene Kammern mit Reagenzien. Bei der Analyse werden die Kammern von außen zusammengedrückt und zum Platzen gebracht. Die Reagenzien fließen in den Küvettenteil und vermischen sich mit der Probe. Das Mischen wird dadurch beschleunigt, daß die Meßzelle von außen wackelnd verformt wird.

Beim sogenannten Zentrifugal-Analyzer (Beschreibung und Literaturübersicht z. B. bei ANDERSON, N. G.: Das Schnellanalysensystem, in: BERGMAYER, H. U., siehe oben) werden Proben und Reagenzien getrennt voneinander auf Speicherstellen einer Transferscheibe plaziert. Läßt man diese dann rotieren, werden Proben und Reagenzien durch die Zentrifugalkraft in die zugehörigen außenliegenden Küvetten gedrängt, gleichzeitig vermischen sie sich.

3. Die Probe und die Reagenzien werden direkt in eine Photometer-Küvette dosiert und in dieser miteinander vermischt.

Das ist am einfachsten und erfordert im Prinzip ein geringes Analysevolumen, weil außer der Photometer-Küvette und den

Dosiertvorrichtungen keine weiteren Gefäße mit Probe und Reagenzien in Berührung kommen. Dieses Verfahren setzt sich immer stärker durch, besonders wenn preiswerte Wegwerfküvetten verwendet werden und gute Photometer in ausreichender Anzahl zur Verfügung stehen, aber auch, wenn Küvetten mehrmals benutzt werden und beispielsweise in den Photometern fest installiert sind.

Eine der ersten Photometer-Küvetten wurde von der Firma Beckman (Fullerton, Kalifornien, USA) 1941 in den Handel gebracht (Standardküvette, quadratischer Innenquerschnitt, Schichtlänge 10 mm, Außenabmessungen $12,5 \times 12,5 \times 45 \text{ mm}^3$, Füllvolumen 1 - 4 ml).

Um den Bedarf an Reaktionsgemisch zu reduzieren, wird oft der Innenquerschnitt der Standardküvette verringert, z. B. auf 4 mm (Halbmikroküvette mit einer Meßstrecke von ebenfalls 10 mm und einem Mindestfüllvolumen von etwa 0,4 ml).

Die Standardküvette und die Halbmikroküvette müssen mit soviel Reaktionsgemisch gefüllt werden, daß der Flüssigkeitsspiegel bei der Messung sicher über dem oberen Rand des Strahlenbündels liegt, und ein großer Teil des Reaktionsgemisches wird nicht unmittelbar zur Schwächung des Strahlungsflusses genutzt. Der Inhalt beider Küvetten kann leicht gemischt werden, beispielsweise durch Schütteln oder mit Rührspateln.

Ein vergleichsweise schwach wirksames Mischverfahren wird im Enzymautomaten 5 020 der Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg, Deutschland, angewendet: Eine Küvette mit rechteckigem Innenquerschnitt oder mit Vorsprüngen an der Innenwand wird mehrmals kreisförmig beschleunigt, und dadurch entstehen Turbulenzen im Reaktionsgemisch.

Viel wirksamer kann man den Inhalt einer Durchflußküvette

mischen, wenn man ihn abwechselnd von einer Richtung in die andere pumpt. Schikanen an der Innenwand dieser Küvette verstärken den Mischeffekt (Prinzip bei NETHELER, H., siehe oben; verwirklicht im Analysegerät ACP 5 040 der Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg, Deutschland).

Dieses Mischverfahren eignet sich für Analysevolumina über 200 μ l, bei kleineren Ansätzen müßten die Küvette und ihre Eingänge als Kapillaren ausgebildet sein. In Kapillaren geraten aber beim Hin-und-herpumpen Luftsegmente von den Enden aus in die Flüssigkeitssäulen. Ein Teil des Reaktionsgemisches kann daher für die Messung nicht genutzt werden.

Alle bisher genannten Analyseverfahren erfordern ein größeres Analysevolumen als für die Schwächung des Strahlungsflusses bei der Photometrie erforderlich ist. Immer wird ein Teil der Flüssigkeit von Hilfsgefäßen, Mischvorrichtungen oder Einlaß- und Verbindungsstücken zurückgehalten oder anderweitig vergeudet, oder das Strahlenbündel muß allseitig von einem Überschuß an Reaktionsgemisch umgeben sein.

Bei einer "idealen Küvette" würde nur der vom Strahlenbündel durchsetzte Anteil (Meßkanal) gefüllt, Probe und Reagenzien würden unmittelbar in den Meßkanal dosiert und direkt im Meßkanal miteinander vermischt.

Ein Meßgefäß der DT-OS 26 41 097 genügt beinahe den Anforderungen, die an eine "ideale Küvette" gestellt werden. Es enthält einen als Meßkanal ausgebildeten Hohlraum (für Mikroanalysen eine Kapillare), dessen Innenwand vor der Analyse mit Reagenzien zu beschichten ist. Die Probe wird in die Kapillare gefüllt und löst die Reagenzien auf. Leicht lösliche Reaktionsteilnehmer verteilen sich schnell im Analyseansatz, weil die Diffusionsstrecken quer zur Kapillarachse kurz sind. Das Mischen kann durch Vibration beschleunigt werden. Beim Einfüllen bildet sich allerdings ein axial gerichteter, störender Konzentrationsgradient aus, der sich während der Analyse nicht ausgleicht. Dieses Verfahren läßt

sich nur dann anwenden, wenn die Reagenzien vor Beginn der Analyse eingefüllt und angetrocknet wurden. Das ist aber bei den meisten Analysen nicht üblich und manchmal auch umständlich oder nicht möglich. Sollen in eine Kapillare aber eine flüssige Probe und flüssige Reagenzien eingefüllt werden, dann entstehen Probleme, die in der zitierten OS nicht gelöst wurden: Es dauerte zu lange, bis die Reaktions- teilnehmer in den longitudinal nacheinandergeschalteten Flüssigkeitssäulen ohne in die Flüssigkeit eintauchendes Hilfsgerät untereinander vermischt sind. Manchmal geraten Luftblasen unbeabsichtigt in die Kapillare, behindern hier das Mischen und stören die Photometrie. Außerdem müßten Probe und Reagenzien nacheinander durch denselben Eingang in die Kapillare gefüllt werden. Dabei könnte man den Inhalt der Proben- oder Reagenzienbehälter durch verschleppte Flüssigkeiten verunreinigen.

Die Probe und die Reagenzien könnten sich allenfalls dann genügend schnell und gleichmäßig in einer solchen Kapillare vermischen, wenn man sie im richtigen Verhältnis zueinander gleichzeitig von derselben Seite aus in die Kapillare injizierte, ähnlich wie es HARVEY, R. A. (Anal. Biochem. 29, 58 - 67, 1969) für größere Küvetten angegeben hat oder wie es in Continuous-Flow-Analysatoren praktiziert wird (siehe oben). Für beide Methoden ist ein Zuleitungssystem erforderlich, und damit ist ein Verlust an Probe und Reagenzien verbunden und auch die Gefahr einer Verschleppung eines Teils der Probe oder des Reaktionsgemisches von einer zur nächsten Analyse.

Einer "idealen Küvette" kommt der in der DDR-PS 107 783 beschriebene Probenträger näher. Er besteht aus zwei parallel zueinander liegenden Platten, die in einem bestimmten Abstand voneinander angeordnet werden und Proben tragende Bereiche (Reaktionsflächen) an den sich gegenüberliegenden Flächen aufweisen. Die Reaktionsflächen sind von ihrer Umgebung durch Nuten, Vorsprünge oder Vertiefungen abgesetzt. Das Reaktions-

gemisch bildet eine Flüssigkeitssäule aus, die von zwei sich gegenüberliegenden Reaktionsflächen durch Adhäsionskräfte festgehalten wird. Zum Mischen wird der Plattenabstand und dadurch die Form der Flüssigkeitssäule verändert, wodurch eine Konvektion in der Flüssigkeit entsteht. Die Platten sind im Bereich der Reaktionsflächen strahlendurchlässig und ermöglichen eine Photometrie senkrecht zur Plattenebene.

Das in der EP-OS O 018 435 angegebene Mikroanalysensystem (weiterentwickelt in der DE-Pat.-Anm. 31 07 964.4) unterscheidet sich von dieser Methode im wesentlichen darin, daß die verwendeten Platten plan sind und eine hydrophil-hydrophobe Beschichtung der beiden Platten die benachbarten Analysen auseinanderhält. So können über 25 Proben auf einem Quadratzentimeter gleichzeitig nebeneinander untersucht werden.

Bei beiden Plattenmethoden ändert sich während der Analyse mit dem Plattenabstand die für die Photometrie zur Verfügung stehende Schichtlänge. Der Plattenabstand läßt sich nur schwer exakt und reproduzierbar einstellen. Bei mehr als 1,5 mm nimmt die Flüssigkeitssäule eine unten zunehmend ausladende Form an, wodurch sich der für die Photometrie genutzte Anteil des Reaktionsgemisches stark verringert. Bei 1 mm Schichtlänge reicht 1 μ l Reaktionsgemisch, bei 3 mm braucht man in der Regel schon 50 μ l. Schichtlängen über 3 mm erreicht man nicht immer, weil dann die Flüssigkeitssäule reißt. Durch Zusatz geeigneter Substanzen zum Reaktionsgemisch, beispielsweise 5 % Carboxymethylcellulose, könnte man mit 50 μ l die Platten für eine photometrische Messung genügend lange über 10 mm auseinanderhalten, ohne daß die Flüssigkeitssäule auseinanderreißt, aber dadurch würde der Aufwand für die Analyse erhöht. Im übrigen müssen die Reaktionsflächen bei den Plattenmethoden während der photometrischen Auswertung durchsichtig sein. Wenn sie beispielsweise vor der Analyse mit Reagenzien beschichtet

werden, kann sich die Transparenz verringern, und es entstehen Fehler bei der Messung.

BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Durch die vorliegende Erfindung werden die Nachteile der zitierten Plattenmethoden beseitigt. Gleichzeitig ergeben sich neue Anwendungsmöglichkeiten im Vergleich zu den anderen oben genannten Reaktionsgefäßen.

Die Reaktionsgefäße der Erfindung erfordern für jede Analyse nur wenige Mikroliter an Probe und Reagenzien. Das Reaktionsvolumen wird auf ein Minimum beschränkt,

weil bei photometrischen Analysen Probe und Reagenzien von den Dosiergeräten direkt in den vom Strahlenbündel des Photometers durchsetzten Teil der Reaktionsgefäße (Meßkanal) abgegeben werden,

weil die Reaktionsgefäße mit nur soviel Flüssigkeit gefüllt werden müssen, als unmittelbar für die Schwächung der Meßstrahlung gebraucht wird (nur der Meßkanal wird gefüllt)

und weil der Analyseansatz im Meßkanal ohne zusätzliche, mit der Flüssigkeit in Berührung kommende Hilfsmittel gemischt wird, verlustfrei und ohne Verschleppungsfehler.

Ein Reaktionsgefäß der Erfindung besteht in einer einfacheren Ausführungsform aus zwei Adhäsionsflächen 1, 2 und zwei senkrecht zu diesen stehenden Begrenzungsflächen (Fenster) 3 a, b, die an einer der Adhäsionsflächen befestigt sein können (z. B. Abb. 1, 4).

Füllen: Die Adhäsionsflächen werden mit Probe und Reagenzien

versehen (3 001 a, b, c), übereinandergelegt und einander genähert, bis Probe und Reagenzien zusammentreffen (3 002 a, b; Abb. 3).

Weil die Probe und die Reagenzien auf verschiedene Stellen 1 a (Abb. 6) einer Adhäsionsfläche (3 001 a) oder auf verschiedene Adhäsionsflächen (3 001 b, c) getropft werden, kommen sie nicht vorzeitig miteinander in Kontakt, die Reaktion wird zu einem genau bestimmbaren Zeitpunkt gestartet. Das zweite Dosiergerät wird nicht mit dem zuerst dosierten Reaktionsteilnehmer verunreinigt.

Mischen: Man kann jetzt die Adhäsionsflächen innerhalb bestimmter Grenzen mehrmals periodisch aufeinander zu und voneinander weg bewegen (3 002 a, b - 3 003 a, b). Ein Gestell (vergleiche DE-Pat.-Anm. 31 22 896.8) legt diese Grenzen fest und verhindert es, daß die Adhäsionsflächen seitlich gegeneinander verrutschen. Bei jeder Periode wird der größte Teil der zwischen den Adhäsionsflächen festgehaltenen Flüssigkeit in die Mitte der Reaktionsgefäße gezogen (3 003 a, b) und dann wieder nach außen verdrängt (3 004). Das ist auch bei kleinsten Volumina und mit über 100 mm langen Reaktionsgefäßen ohne Schwierigkeiten möglich, und es kommt eine so starke Konvektion zustande, daß der Analyseansatz innerhalb sehr kurzer Zeit durchmischt ist.

Man kann den Analyseansatz auf diese Weise manuell oder automatisch mischen, und mit einer Vibrationseinrichtung, die nur kleine Auslenkungen erzeugt, sogar während einer photometrischen Messung, ohne dabei den Strahlengang zu verlegen oder die Schichtlänge zu verändern.

Wenn ein Reagenz an einen festen Träger gebunden ist, beispielsweise bei einer Analyse mit immobilisierten Enzymen, oder wenn ein Reaktionsteilnehmer dazu neigt, sich während der Analyse auf dem Boden des Reaktionsgefäßes abzusetzen, dann entstehen bei anderen Analysesystemen Fehler durch eine

von Probe zu Probe ungleichmäßige Konvektion. Diese Fehlerquelle wird ausgeschaltet, wenn man während der Analyse mischt, und die Reaktionen laufen schneller ab, weil sich große Diffusionsgradienten nicht aufbauen können.

Bei kinetischen Untersuchungen schnell ablaufender chemischer Reaktionen müssen die Reaktionsteilnehmer innerhalb weniger Millisekunden untereinander vermischt werden. Nach dem von HARVEY, R. A. (siehe oben) entwickelten Verfahren werden die Reaktionsteilnehmer über Zuleitungen und eine Mischkammer in eine Küvette gepreßt. Das ist umständlich und erfordert ein zu großes Analysevolumen. Mit den Reaktionsgefäßen der vorliegenden Erfindung läßt sich das einfacher und sparsamer erreichen: Die Reaktionsteilnehmer werden, getrennt voneinander, auf der ganzen Länge der beiden Adhäsionsflächen ausgebreitet (3 001 c) und dann zusammengebracht (3 004). Die Diffusionswege sind bei einem genügend kleinen Durchmesser des Flüssigkeitszylinders so kurz, daß sich die Reaktionsteilnehmer sehr schnell gleichmäßig verteilen.

Bei einer photometrischen Analyse leitet man das Strahlenbündel in der Regel parallel zu den Adhäsionsflächen durch die beiden Fenster 3 a, b (3 004, 7 006, 10 004). Wenn die Adhäsionsflächen ihren kleinsten Abstand voneinander einnehmen, weicht die Flüssigkeit bis an die Fenster aus und benetzt sie von innen. Dadurch wird verhindert, daß die Strahlung an den Grenzflächen der Flüssigkeit zu Luft reflektiert und gebrochen wird (3 006).

Die Adhäsionsflächen brauchen nicht transparent zu sein, weil sie nicht vom Strahlenbündel des Photometers durchsetzt werden. Man kann sie daher auch mit solchen Reagenzien vorbeschichten, die sich während der Analyse nicht auflösen und Meßstrahlung absorbieren. Die Adhäsionsflächen können sogar aufgeraut werden, damit sie mehr Reagenzien binden. Zur Temperierung des Reaktionsgemisches können

die Adhäsionsbereiche mit Flächenheizelementen versehen sein, z. B. mit Peltierelementen.

Der Abstand beider Fenster voneinander muß während der photometrischen Analyse nicht verändert werden. Dadurch ist die für die Schwächung des Strahlungsflusses wirksame Schichtlänge konstant. Sie kann 10,00 mm, aber auch bis über 100,00 mm betragen.

Das Reaktionsgemisch wird durch die sich gegenüberliegenden Adhäsionsflächen festgehalten und entgegen seinem Bestreben, die Oberfläche zu minimieren und sich kreis- oder kugelförmig auszubreiten, in eine für die jeweilige Analyse geeignete, in der Regel längliche, Form gebracht. Diese Form ist außer durch das Volumen und die Adhäsions- und Kohäsionseigenschaften der Flüssigkeit im wesentlichen durch das Profil (z. B. 101 bis 121, Abb. 5) der Adhäsionsflächen, ihren Abstand voneinander und durch den Abstand der Fenster 3a, b voneinander (z. B. 10,00 mm in Abb. 1) bestimmt. Die Adhäsionsflächen lassen sich so gestalten, daß sich alles Reaktionsgemisch unmittelbar für die Analyse nutzen läßt und ein Überschuß nicht erforderlich ist.

Man kann das Reaktionsgemisch beispielsweise zu einem Zylinder formen (Abb. 4: 112). Ein 10 mm langer Zylinder mit 1 mm Durchmesser hat ein Volumen von 7,85 μ l. Für viele mit den Reaktionsgefäßen der Erfindung durchgeführte photometrische Analysen reicht dieses Volumen aus, wenn ein geeignetes Photometer vorhanden ist. Es ist aber beispielsweise auch möglich, einen 1 μ l großen Tropfen auf 10 mm oder auf 100 mm Länge zu strecken.

Gestaltung der Adhäsionsflächen: Die Adhäsionsflächen können plan sein (z. B. Abb. 1: 102; Abb. 5: 101, 102, 105, 106), vertieft (z. B. Abb. 4: 112; Abb. 5: 111, 112, 115, 116) oder erhaben (z. B. Abb. 5: obere Adhäsionsflächen bei 117, 119). Sie können von ihrer Umgebung durch eine beliebige

Oberflächenstruktur abgesetzt sein, müssen es aber nicht. Sie können Eigenschaften aufweisen, durch die das Reaktionsgemisch angezogen wird, während ihre Umgebung das Reaktionsgemisch abstößt. Wenn beispielsweise die Reaktion in einer wäßrigen Lösung stattfinden soll, bestehen die Adhäsionsflächen aus einem hydrophilen Material, oder sie sind mit einer hydrophilen Schicht versehen, während die Umgebung der Adhäsionsflächen aus einem hydrophoben Material besteht oder hydrophob beschichtet ist.

Die Adhäsionsflächen können das Reaktionsgemisch aber auch abstoßen, wenn durch andere Mittel dafür gesorgt wird, daß es nicht ausweichen kann, beispielsweise, wenn mindestens eine der Adhäsionsflächen konkav ist (z. B. Abb. 4: 112; Abb. 5: 109 bis 116).

Die Adhäsionsflächen können selbst in hydrophile 1 a hydrophobe 1 b Zonen unterteilt sein, oder mehrere Vertiefungen aufweisen, damit die Probe und die Reagenzien leichter nebeneinander plazierte werden können, ohne sich vorzeitig miteinander zu vermischen (Abb. 6).

Sollen die Adhäsionsflächen schmal und lang sein, dann reicht es manchmal nicht aus, wenn man ein Paar planer Flächen (Abb. 5: 101) nur hydrophil-hydrophob beschichtet, weil die meisten Flüssigkeiten dazu neigen, sich kreisförmig auszubreiten. Sie lassen sich nur gegen Widerstand in die Länge strecken. Das gelingt leichter, wenn die untere Adhäsionsfläche konkav ist (z. B. Abb. 5: 109 bis 116). Dadurch wird die (gegebenenfalls hydrophile) Oberfläche vergrößert und die Schwerkraft zusätzlich ausgenutzt. Die Adhäsionsfläche darf aber nicht zu stark gewölbt sein, weil sich sonst die Flüssigkeit nicht mehr gut mischen läßt.

Die nähere Umgebung der Adhäsionsflächen darf keine zu engen Spalte aufweisen, in die sich durch Kapillarwirkung ein Teil des Reaktionsgemisches ausbreitete. Die Form 101 ist

beispielsweise ungeeignet für Reaktionsgefäße mit einem kleinen Abstand zwischen der oberen und der unteren Adhäsionsfläche, im Gegensatz zur Form 102 (Abb. 5).

Je kleiner das Analysevolumen ist, umso stärker wird die Analyse beeinträchtigt, wenn die Reaktionsteilnehmer oder das Lösemittel verdunsten. Bei den oben zitierten Plattenmethoden wird das Verdunsten dadurch gebremst, daß die beiden sich gegenüberliegenden Platten zusammen mit ihrem Gestell eine feuchte Kammer bilden, in der die Reaktion abläuft. Für die Reaktionsgefäße der vorliegenden Erfindung lassen sich ähnliche Verhältnisse schaffen. Sie können darüberhinaus so gestaltet werden, daß das Reaktionsgemisch mit sehr wenig Luft umgeben und dadurch zusätzlich vor dem Austrocknen geschützt ist (z. B. Abb. 5: 116, 121).

Vom Auftragen der Reaktionsteilnehmer bis zum Start der Reaktion darf nicht zu viel Zeit vergehen.

Bei vielen Untersuchungen werden die Reaktionsteilnehmer dem Analyseansatz nacheinander zugegeben. Wenn man beispielsweise bestimmen will, wieviel Aspartat-Aminotransferase in einem Serum enthalten ist (BERGMEYER, H. U. und andere, Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 10, 182 - 192, 1972), inkubiert man die Probe mit mehreren Reagenzien, startet die Reaktion mit Alpha-Ketoglutarat und mißt dann die Geschwindigkeit, mit der die Extinktion im Analyseansatz abnimmt. Man kann das Startreagenz mit einem Dosiergerät direkt zwischen die Adhäsionsflächen pipettieren, oder es über einen Kanal durch eine Adhäsionsfläche hindurch zufügen (Abb. 9: Zulauf 9). Man kann aber auch eine weitere, das Startreagenz tragende Adhäsionsfläche mit den ersten Adhäsionsflächen zusammenbringen (Abb. 5: 121). Oder man plaziert Probe und mehrere Reagenzien nebeneinander, den einen Reaktionsteilnehmer in einem kleineren Volumen und etwas abseits von den anderen (7 001 a, b). Nach der Vorreaktion (7 002 a, b) werden die Adhäsionsflächen

einander bis auf einen Minimalabstand genähert (7 004). Dabei vereinigt sich der dritte Reaktionsteilnehmer mit den ersten.

Es gibt noch eine andere Möglichkeit, dem Reaktionsgemisch ein Startreagenz zuzusetzen: Die untere Adhäsionsfläche wird so gestaltet, daß ein Teil von ihr unterhalb des Strahlenbündels zu liegen kommt (Depotzone 5). Die Depotzone kann eine mit Reagenzien (vorzugsweise flüssig, aber auch hydrophilisiert) gefüllte zugeschmolzene Glaskapillare 6 aufnehmen. Ihr Inhalt wird erst nach der Vorreaktion dem Analyseansatz zugemischt. Zu diesem Zweck wird die obere Adhäsionsfläche zum gewünschten Zeitpunkt einmal soweit abgesenkt (802), daß sie die Kapillare zerbricht. Ein Teil der Flüssigkeit wird dabei vorübergehend in Ausbuchtungen 7 der Adhäsionsflächen verdrängt. Das freigesetzte Startreagenz vermischt sich mit den anderen Reaktionsteilnehmern, und die Bruchstücke der Kapillare bleiben in der Depotzone liegen, wo sie die Photometrie nicht stören (Abb. 8). Anstelle einer Glaskapillare kann man auch ein Plastikröhrchen verwenden, das von scharfen Kanten einer der Adhäsionsflächen aufgeschnitten wird.

Eine Depotzone eröffnet zusätzliche Möglichkeiten für die Analytik: Eine Reaktion, bei der ein oder mehrere Ausgangs- oder Endprodukte ausgefällt werden (gegebenenfalls beschleunigt durch Zentrifugieren) kann genauer beurteilt werden: Der Niederschlag sammelt sich in der Depotzone, und die im Überstand meßbare Extinktion nimmt ab (Beispiele: Blutgruppenuntersuchung und andere Agglutinationstests, Hämolysetests).

Bei einem Radioimmuntest oder bei einem Enzymimmuntest kann man auch einen mit Reagenzien vorbeschichteten Träger in die Depotzone legen, z. B. ein außen beschichtetes Stäbchen 8 (Abb. 9) oder eine Kugel. Für denselben Zweck können auch eine elastisch flexible Hohlkugel 11 (Abb. 10) oder ein

Schwammkörper verwendet werden, die innen beschichtet sind und Öffnungen nach außen aufweisen. Sie werden während der Analyse durch Ändern des Abstandes beider Adhäsionsflächen voneinander abwechselnd zusammengepreßt und losgelassen (10 002, 10 003). Dabei geben sie Flüssigkeit ab und füllen sich wieder, während sie sich ausdehnen. Auch im entspannten Zustand reichen sie nicht bis zum Meßkanal hinauf, und die Extinktion im Überstand kann ungehindert gemessen werden.

Im Verlaufe mancher Analysen, z. B. vieler Radioimmuntests und Enzymimmuntests, muß das Reaktionsgefäß entleert und im Reaktionsgefäß eine beschichtete Oberfläche gewaschen werden. Das kann man durch einen Ablauf 10 und einen Zulauf 9 (Abb. 9) erleichtern, die in eine Öffnung der unteren Adhäsionsfläche münden.

Man kann beliebig viele Reaktionsgefäße zu einer Einheit zusammenfassen und mehrere Proben synchron nebeneinander untersuchen (11 001, 12 001). Dadurch wird der Arbeitsablauf bei Serienuntersuchungen rationalisiert, besonders wenn man Proben und Reagenzien mit mehrkanaligen Transfer- oder Dispensierpipetten dosiert (z. B. EP-Anm. 80 10 50 31.1).

Man kann mehrere Adhäsionsflächen auf zwei Förderbändern anordnen und daraus eine Vorrichtung konstruieren, in der beliebig viele Analysen gleichzeitig asynchron nebeneinander ablaufen. Zusammen mit einer Mikroprozessorsteuerung und entsprechenden Dosiergeräten kann diese Vorrichtung zu einem Analyseautomaten 13 001 ausgebaut werden, der die Proben anforderungsgerecht bearbeitet, das heißt, der Analyseautomat führt selektiv alle angeforderten Untersuchungen einer Probe durch, bevor die nächste Probe an die Reihe kommt.

Ein Rastmechanismus kann die Reaktionsgefäße immer exakt und reproduzierbar im Strahlengang des Photometers ausrichten. Bei vielen Photometern mit Küvettenwechslern (z. B. das

Photometer 1 101 der Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg, Deutschland oder bei einer von JONES, R. T. und WEISS, G. angegebenen Vorrichtung - Anal. Biochem. 9, 377 - 391, 1964) ist die Stellung des Küvettenhalters durch einen Rastmechanismus gesichert, aber nicht die Position der Küvetten im Küvettenhalter. Das Photometer zeigt unterschiedliche Extinktionswerte an, wenn ein und dieselbe Küvette mit demselben Inhalt mehrmals in den Küvettenhalter gestellt wird. Die Messung wird dadurch kaum beeinträchtigt, wenn große Küvetten verwendet werden. Bei Mikroküvetten und damit auch bei den Reaktionsgefäßen der Erfindung können erhebliche Meßfehler entstehen, wenn sich ihre Position geringfügig ändert, besonders bei einem langen und engen Meßkanal. Um diese Fehlerquelle auszuschalten, kann man an zwei sich gegenüberliegenden Außenflächen des Reaktionsgefäßes Rastungen 12 anbringen, die zusammen mit am Gehäuse des Photometers befestigten Rastfolgern 13 das Reaktionsgefäß genau im Strahlengang ausrichten (Abb. 11). Das Reaktionsgefäß kommt in eine Halterung, in der seine Position im Photometer nur ungenau festgelegt ist. Dazu könnte es in der Halterung von Federn umgeben sein, oder die Halterung ist mit Federn am Gehäuse befestigt. Die Rastfolger greifen in die Rastungen ein und bringen das Reaktionsgefäß in die endgültige exakte Position. Befinden sich die Rastungen direkt im Bereich der Fenster (Rastungen und Rastfolger in der Mitte für das Strahlenbündel offen), dann genügen auf beiden sich gegenüberliegenden Seiten nur jeweils eine Rastung und ein Rastfolger, sonst ist die doppelte Anzahl erforderlich.

Ein Block mit mehreren Reaktionsgefäßen läßt sich leichter im Photometer verschieben, wenn seine Rastungen durch Nuten 14 verbunden sind.

Man kann ein zusammengesetztes Reaktionsgefäß der Erfindung als eine der Länge nach gespaltene Kapillare betrachten, z. B. 112 in Abb. 4. Die Spalte können gerade so eng gestellt werden, daß Luft ungehindert austreten kann, Flüssigkeit aber bis zu einem bestimmten Druck zurückgehalten wird. Die Flüssigkeit ist bestrebt, ihre Grenzfläche zur Luft nicht zu vergrößern und tritt deshalb nicht freiwillig durch die Spalte. Man kann deshalb von beiden Seiten aus Flüssigkeit gleichzeitig in das Reaktionsgefäß füllen. Die trennende Luft entweicht durch die Spalte, und die Flüssigkeiten treffen innerhalb der Kapillare zusammen. Das läßt sich für Untersuchungen ausnutzen, bei denen eine Grenzschicht zwischen zwei Flüssigkeiten beurteilt wird, beispielsweise für die Blutgruppenuntersuchung nach CHOWN (in: BOORMAN, K. E. und DODD, B. E., Blutgruppenserologie, Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart, 1964), bei der man eine Antikörperlösung mit einer Suspension roter Blutkörperchen überschichtet. Bei der Originalmethode treten beide Flüssigkeiten durch denselben Eingang in die Kapillare. Dabei bekommt die zweite Flüssigkeit vorzeitig Kontakt mit an der Innenwand der Kapillare haftenden Resten der ersten Flüssigkeit, störende Luftblasen können zwischen Antikörperlösung und Blutkörperchensuspension gelangen und das Reservoir der zweiten Flüssigkeit kann mit der ersten Flüssigkeit verunreinigt werden. Die Reaktionsgefäße der Erfindung haben diese Nachteile nicht.

Die Reaktionsgefäße der vorliegenden Erfindung können für chromatographische Verfahren benutzt werden, z. B. für die Gelelektrophorese. Die Kapillartechnik nach GROSSBACH, U., der rundum geschlossene Kapillaren verwendet (Biochem. Biophys. Acta 107, 180 - 182, 1965), wird einfacher: Ein Reaktionsgefäß, z. B. 102 (Abb. 1) oder 112 (Abb. 4) wird zusammengesetzt und mit einem Elektrophoreseträger gefüllt, beispielsweise mit einem Agarose- oder Polyacrylamid-Gel. Dabei kann eine der beiden Adhäsionsflächen vorher so beschichtet werden, daß sie das Gel fester hält als die ander-

Adhäsionsfläche, z. B. durch Silanisierung nach RADOLA, B. J. (Electrophoresis '79, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1980, Ss. 79 - 94; Glas - Silan - Polyacrylamid) oder durch Teflonisierung nach STÖCKER, W. (nicht veröffentlicht; Glas - Teflon - Agarose). Wenn der Elektrophoreseträger erstarrt oder polymerisiert ist und man das Reaktionsgefäß öffnet, liegt das Gel auf der vorbeschichteten Adhäsionsfläche. Die Probe kann jetzt an beliebiger Stelle aufgetragen werden, im Gegensatz zur Methode mit der rundum geschlossenen Kapillare. Für die elektrophoretische Auftrennung kann das Reaktionsgefäß zusammengesetzt und danach wieder auseinander genommen werden. Da das Gel dann freiliegt und nicht aus der Kapillare entfernt werden muß, läßt es sich wesentlich leichter fixieren, färben und entfärben, oder auch durch immunologische Methoden entwickeln.

Ein Reaktionsgefäß der Form 106 (Abb. 5) braucht nach der Auftrennung nicht geöffnet zu werden. Da das Gel von den Seiten her frei zugänglich für Flüssigkeiten ist, kann man das Reaktionsgefäß mit dem Gel zusammen in Fixier-, Färbe- und Entfärbebäder stellen.

Wenn mehrere Elektrophoresen nebeneinander ablaufen (11 001, für High Performance Thin Layer Chromatography: 12 001), werden die Vorteile der Erfindung gegenüber der GROSSBACH-Technik besonders deutlich: Für viele Chromatogramme ist hier der Arbeitsaufwand nicht größer als für ein einzelnes. Die Gele liegen fest auf den Adhäsionsbereichen, sie lassen sich leichter handhaben und untereinander besser vergleichen. Werden teure Reagenzien für die Färbung eingesetzt, z. B. teure Antikörperlösungen für eine Immunfixation, dann kann man sie auf dem Adhäsionsbereich, der das Gel nicht trägt und vorübergehend abgenommen wird, ausbreiten und das Gel damit überschichten.

PATENTANSPRÜCHE

1. Reaktionsgefäße mit wenigen Mikrolitern Inhalt für photometrische und andere Analysen, in die gerade soviel flüssige, in Flüssigkeiten gelöste oder lösliche Proben und Reagenzien gefüllt werden, als es unmittelbar für die Auswertung der Analysen nötig ist und deren enthaltene Flüssigkeit verlustfrei direkt innerhalb der Reaktionsgefäße und ohne zusätzliche von der Flüssigkeit benetzte Hilfsmittel gemischt werden kann, dadurch gekennzeichnet,

daß sie aus zwei oder mehreren voneinander trennbaren und gegeneinander beweglichen, sich gegenüberliegenden Adhäsionsflächen (1, 2) zusammengesetzt sind, die die enthaltene Flüssigkeit (4) durch Adhäsionskraft, Schwerkraft oder andere Kräfte von mehreren Seiten her festhalten und sie in eine vorbestimmte, für die jeweilige Analyse geeignete, in der Regel längliche, Form bringen, deren Querschnitt außer durch das Volumen, die Kohäsions- und die Adhäsionseigenschaften der enthaltenen Flüssigkeit im wesentlichen durch das Profil der Adhäsionsflächen und ihren Abstand voneinander bestimmt ist,

daß Proben und Reagenzien zusammen oder getrennt voneinander in die zusammengesetzten Reaktionsgefäße eingefüllt werden oder daß sie auf die einzelnen Adhäsionsflächen (3 001 a, b, c; 7 001 a, b) oder auf voneinander abgesetzte Speicherstellen (1 a) der Adhäsionsflächen auseinandergenommener Reaktionsgefäße aufgetragen und durch Zusammensetzen (3 002 a, b; 3 004 c; 7 002 a, b; 7 004 a, b) der Reaktionsgefäße miteinander in Kontakt gebracht werden

und daß die Adhäsionsflächen jedes Reaktionsgefäßes

während der Analyse zwischen einem einstellbaren Mindestabstand (3 004; 7 004) und einem einstellbaren Höchstabstand (3 003 a, b; 7 005) aufeinander zu und voneinander weg bewegt werden können, ohne seitlich gegeneinander zu verrutschen, wobei sich beim ersten Einstellen des Mindestabstandes getrennt voneinander aufgetragene Flüssigkeiten miteinander vereinigen (3 002 a, b; 7 004) und die Reaktionsteilnehmer sich beim rhythmischen Wechsel zwischen Mindest- und Höchstabstand untereinander vermischen.

2. Reaktionsgefäße nach Anspruch 1, in denen die enthaltene Flüssigkeit in einer genau bestimmten Position festgehalten wird, solange die Reaktionsgefäße gefüllt und zusammengesetzt sind, gekennzeichnet durch ein oder zwei vorzugsweise senkrecht zu den Adhäsionsflächen angebrachte Begrenzungsflächen (Fenster 3 a, b), die zusätzlich zu den Adhäsionsflächen von der Flüssigkeit benetzt werden.
3. Verwendung der Reaktionsgefäße nach Anspruch 1 oder Anspruch 2 als Meßgefäße für photometrische Analysen mit für die Schwächung des Strahlungsflusses zur Verfügung stehenden Schichtlängen bis über 100 mm, gekennzeichnet dadurch, daß die Meßstrahlung parallel zu den Adhäsionsflächen durch die enthaltene Flüssigkeit geführt wird (3 004; 7 006; 10 004).
4. Reaktionsgefäße nach Anspruch 2, verwendet nach Anspruch 3, deren für die Schwächung des Strahlungsflusses zur Verfügung stehende Schichtlänge genau festgelegt ist und sich während der Analyse nicht verändert, dadurch gekennzeichnet, daß die senkrecht zu den Adhäsionsflächen angebrachten

Begrenzungsflächen (Fenster 3 a, b) die Flüssigkeit von zwei sich gegenüberliegenden Seiten aus begrenzen und optisch transparent sind, sodaß die Meßstrahlung durch sie hindurch in die Reaktionsgefäße und aus den Reaktionsgefäßen geführt werden kann.

5. Reaktionsgefäße nach den Ansprüchen 1, 2 oder 4, bei denen während der Analyse ein oder mehrere Dosierschritte eingespart werden, dadurch gekennzeichnet, daß die Adhäsionsflächen oder die Begrenzungsflächen oder beide vor Beginn der Analysen mit Proben oder mit Reagenzien vorbeschichtet werden.
6. Vorrichtungen für Reaktionsgefäße nach einem der vorstehenden Ansprüche, die es ermöglichen, daß mehrere Proben gleichzeitig nebeneinander analysiert werden können, synchron oder zeitlich versetzt, dadurch gekennzeichnet, daß die Adhäsionsflächen mehrerer Reaktionsgefäße auf gemeinsamen Halterungen befestigt sind (11 001; 12 001; 13 001).
7. Verwendung kapillarartiger Reaktionsgefäße nach einem der vorstehenden Ansprüche für Untersuchungen einer Grenzschicht zwischen zwei Flüssigkeiten oder für andere Analysen, bei denen Flüssigkeiten von mehreren Seiten gleichzeitig oder nacheinander in ein Luft enthaltendes Reaktionsgefäß eingefüllt werden, ohne dabei von der Luft behindert zu werden, gekennzeichnet dadurch, daß die Adhäsionsflächen (1, 2) des zusammengesetzten Reaktionsgefäßes in einem solchen Abstand voneinander angeordnet sind, daß die in den Reaktionsgefäßen befindliche Luft beim Einfüllen der Flüssigkeiten ungehindert zwischen den Adhäsionsbereichen entweichen

kann, die Flüssigkeiten aber in den Reaktionsgefäßen zurückgehalten werden.

8. Verwendung kapillarartiger Reaktionsgefäße nach einem der vorstehenden Ansprüche für chromatographische Analysen,
gekennzeichnet dadurch,
daß die Adhäsionsflächen mit einem chromatographischen Trägermaterial beschichtet werden oder daß ein chromatographisches Trägermaterial in das zusammengesetzte Reaktionsgefäß eingefüllt wird, die Proben auf das Trägermaterial aufgetragen und die in den Proben enthaltenen Substanzen parallel zu den Adhäsionsflächen aufgetrennt werden.

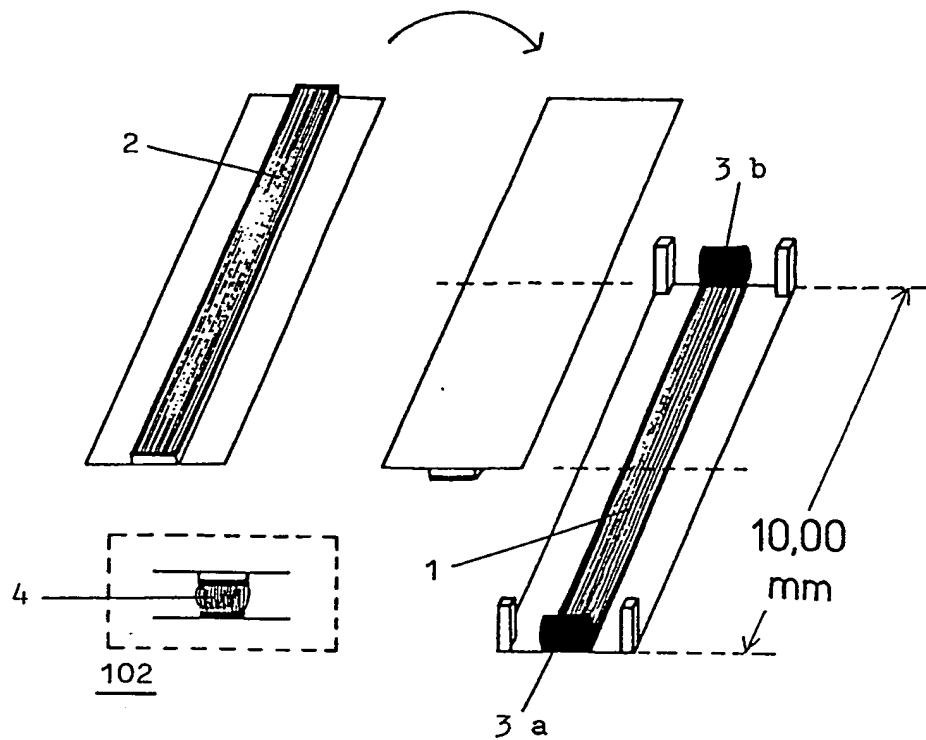
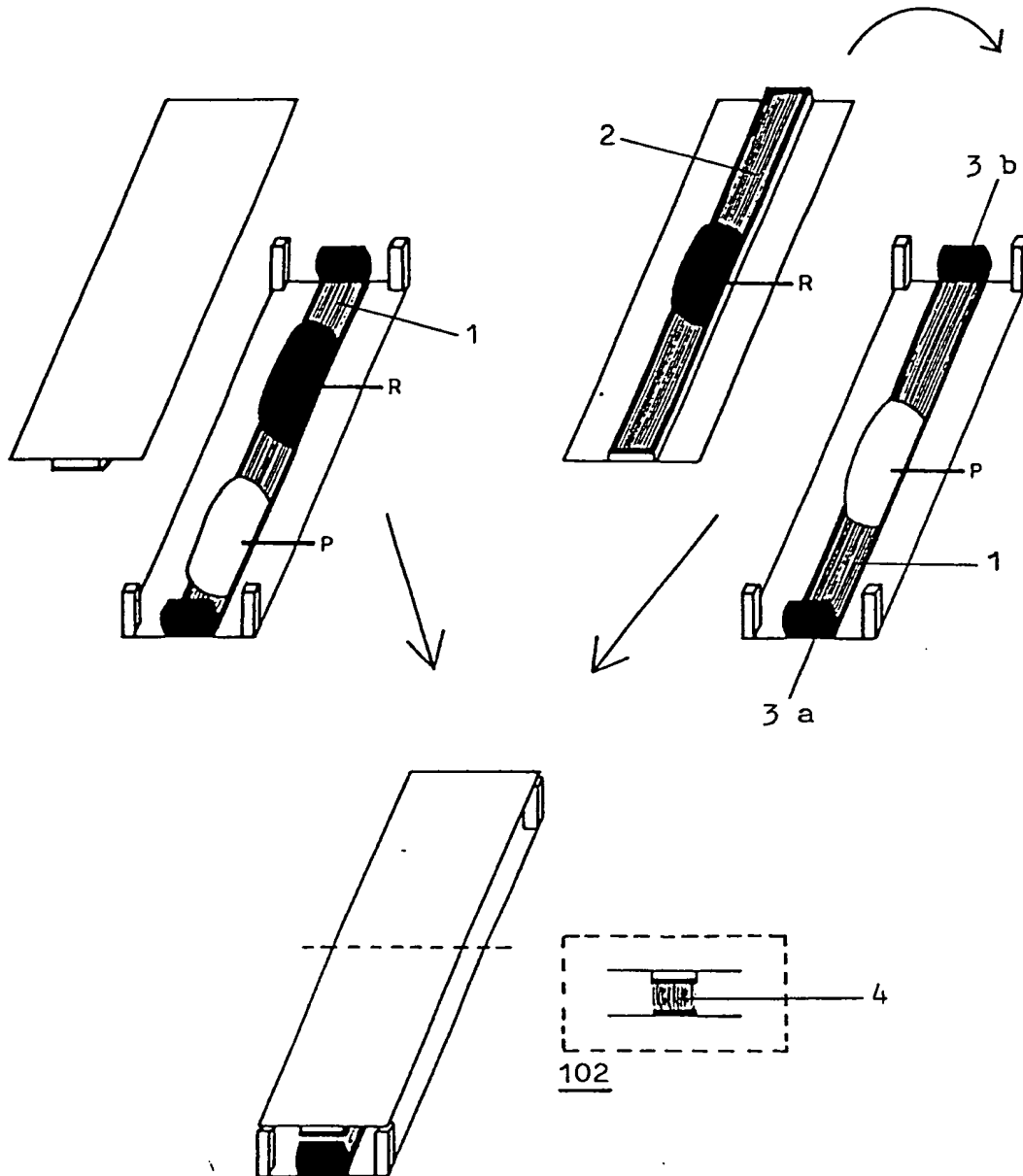
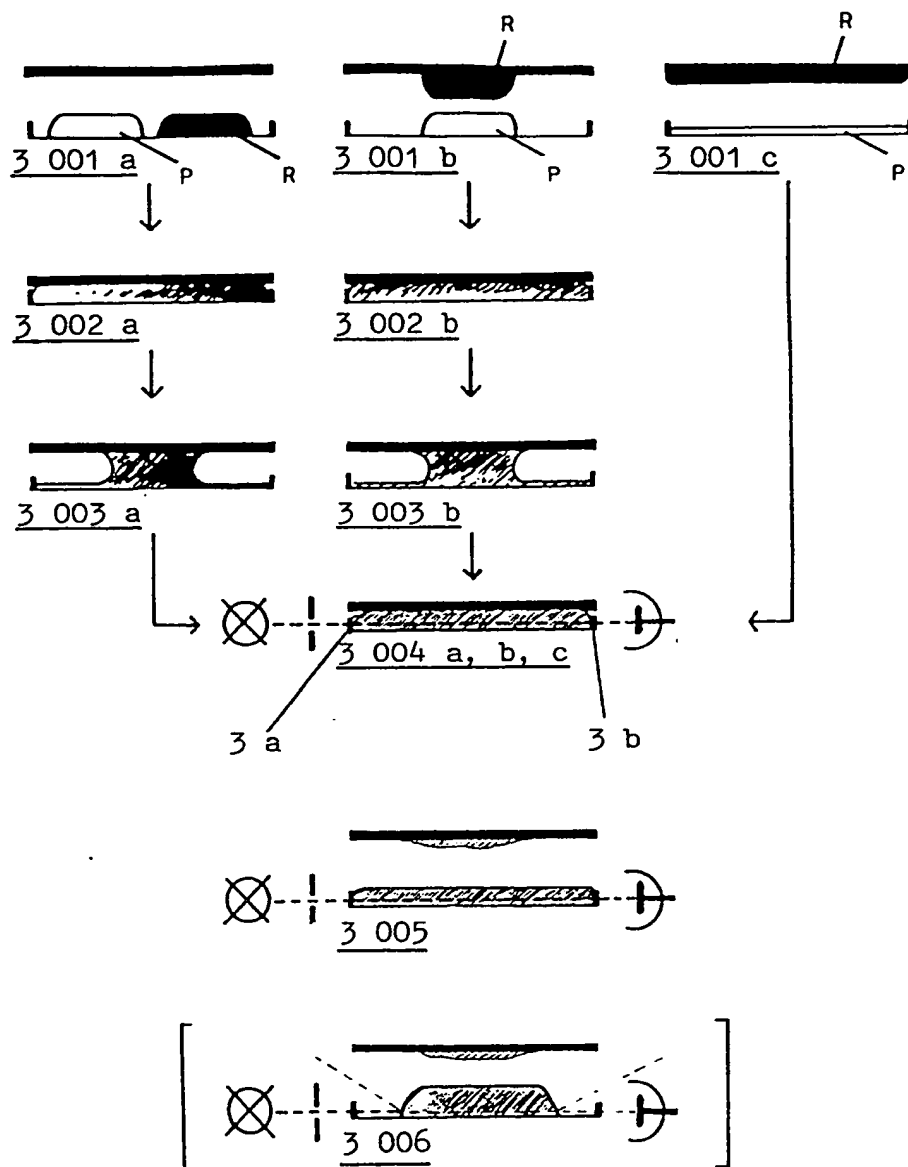


Abbildung 1

Abbildung 2

Abbildung 3

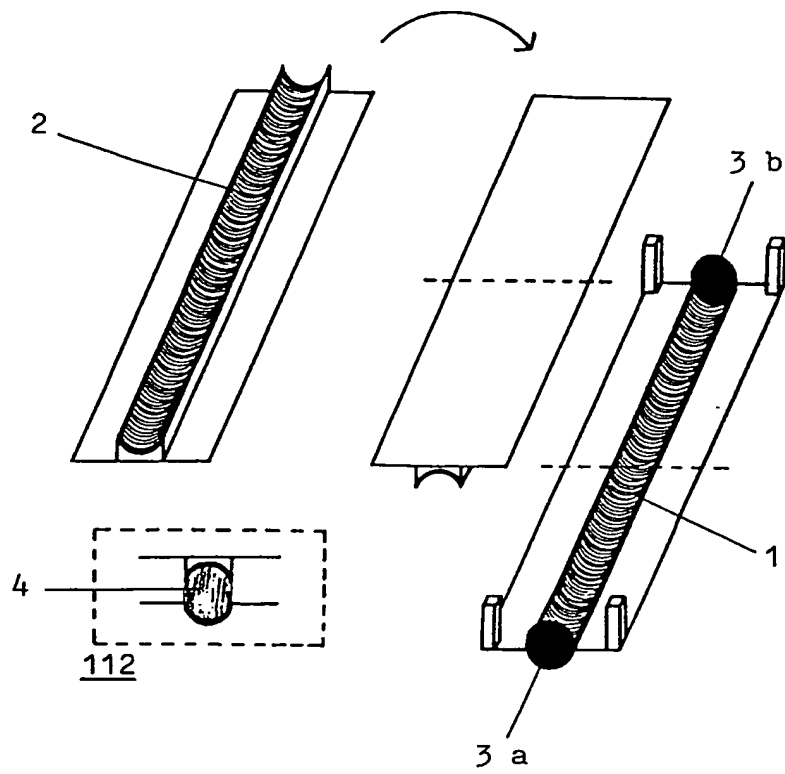
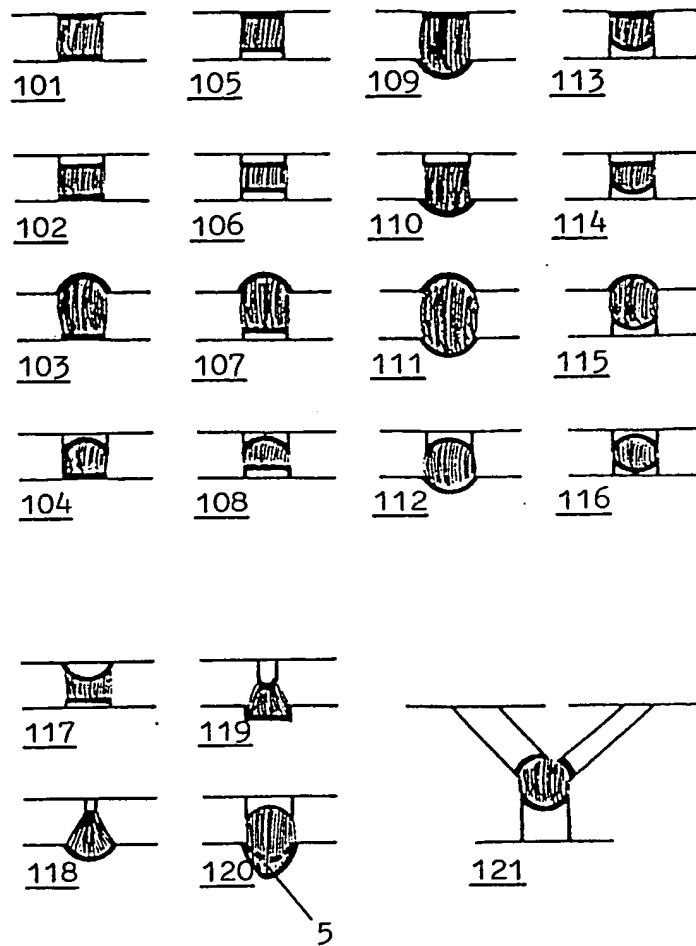


Abbildung 4

Abbildung 5

6/13

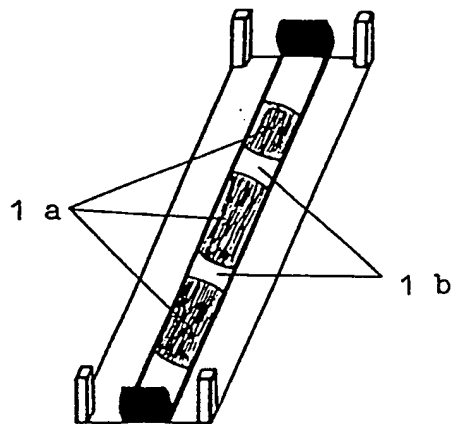


Abbildung 6

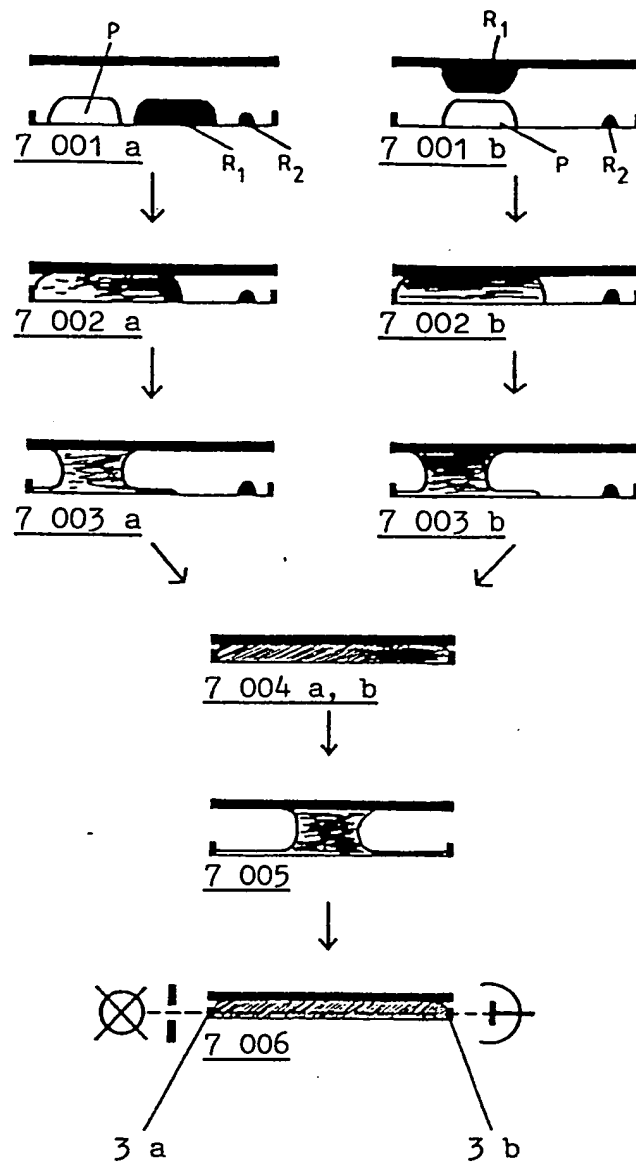


Abbildung 7

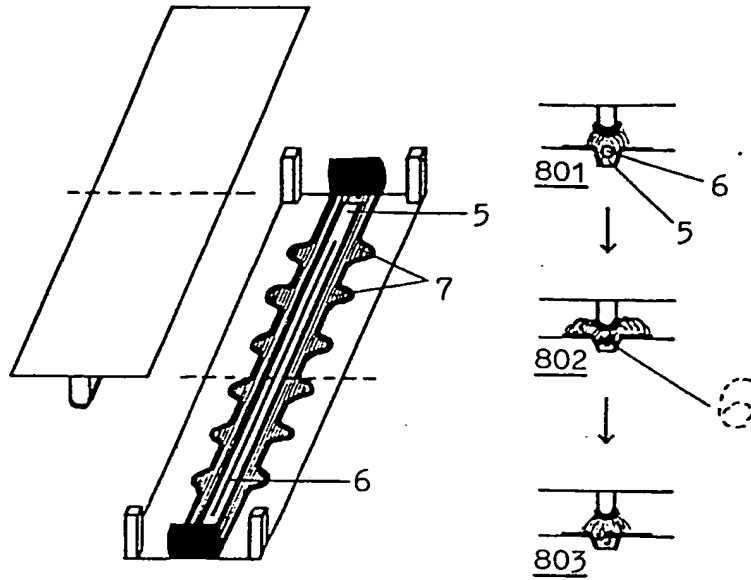


Abbildung 8

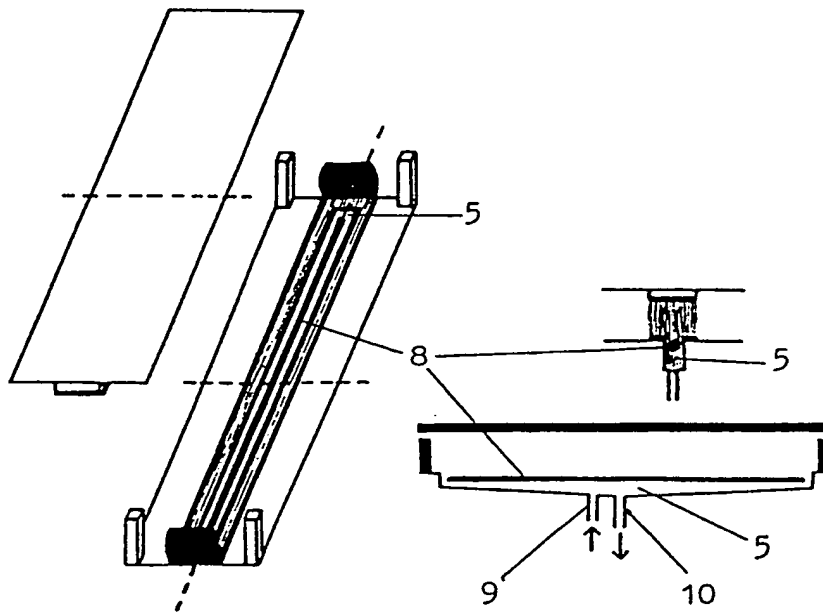
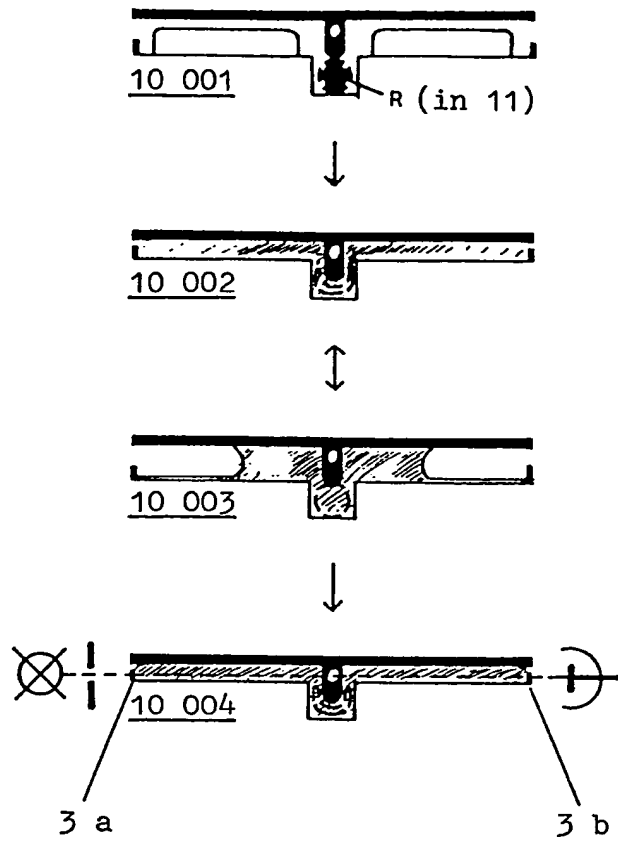


Abbildung 9

Abbildung 10

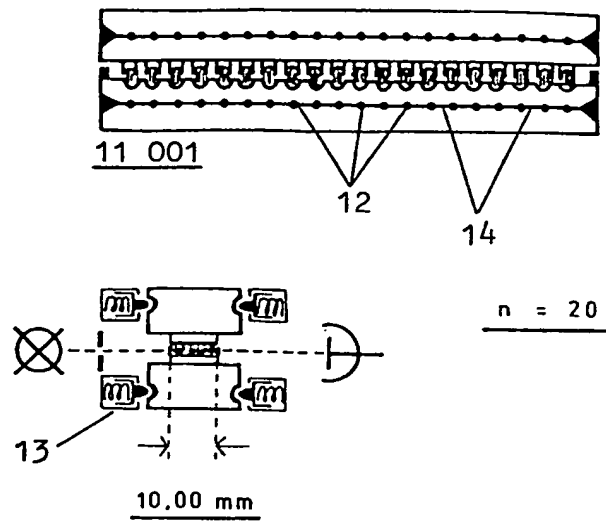
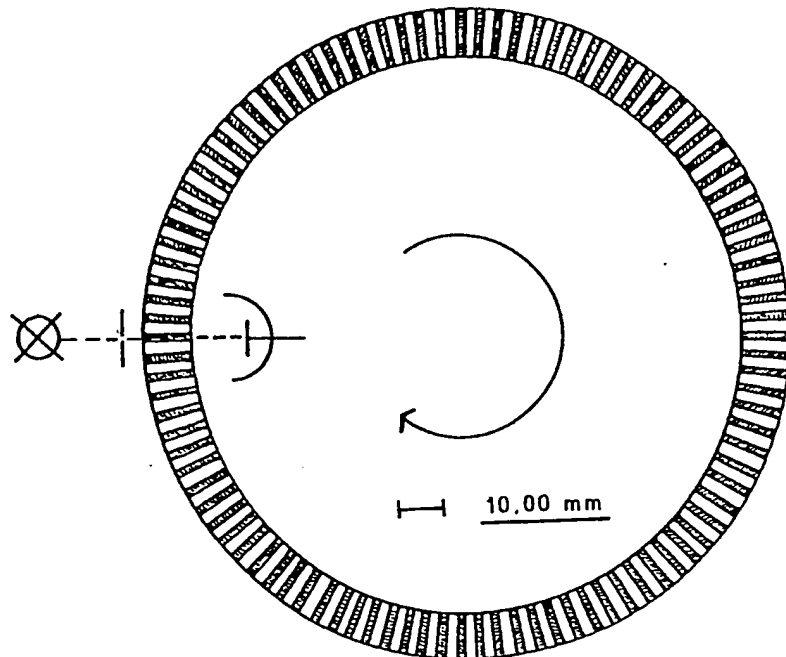
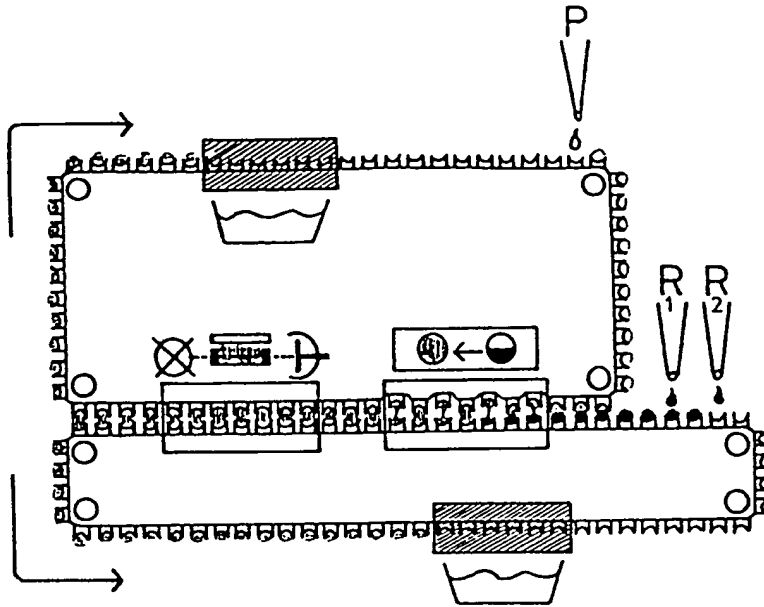


Abbildung 11

12 001Abbildung 12

13 001Abbildung 13



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0075605

Nummer der Anmeldung

EP 81 10 7627

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 7)
X,D	EP-A-0 018 435 (W. STOCKER) * Seiten 5-7 *	1,6	B 01 L 3/00 G 01 N 21/03
A	--- US-A-3 859 050 (A. HORN et al.) * Spalten 2,4; Figuren 1-5 *	1	
A,D	--- DD-B- 107 783 (A. HORN et al.) * Seiten 3-7; Figur 1 * -----	1	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 7)
			B 01 L 3/00 G 01 N 21/03 G 01 N 33/48
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 20-06-1982	
		Prüfer BOEHM CH.E.D.	
<div>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</div> <div>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze</div> <div>E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</div>			

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.